

**Prioritätsbescheinigung über die Einreichung
einer Patentanmeldung**

Aktenzeichen: 102 53 623.6

Anmeldetag: 15. November 2002

Anmelder/Inhaber: TransMIT Gesellschaft für Technologietransfer mbH,
35394 Gießen/DE

Erstanmelder: Professor Dr. Werner Seeger,
35444 Biebertal/DE; Dr. Thomas Schmehl,
35390 Gießen/DE; Dr. Tobias Gessler,
35435 Wettenberg/DE; Lea Ann Dailey und
Matthias Wittmar, 35037 Marburg/DE.

Bezeichnung: Bioabbaubare kolloidale Partikel, insbesondere
für pulmonale Applikationen

IPC: C 08 F, C 08 G

Die angehefteten Stücke sind eine richtige und genaue Wiedergabe der ursprünglichen Unterlagen dieser Patentanmeldung.

München, den 19. März 2004
Deutsches Patent- und Markenamt
Der Präsident
Im Auftrag

Ebert

PRIORITY DOCUMENT
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH
RULE 17.1(a) OR (b)

BEST AVAILABLE COPY



Bioabbaubare kolloidale Partikel, insbesondere für pulmonale Applikationen

5 Beschreibung

Die Erfindung betrifft eine Zusammensetzung aus einem biologisch abbaubaren amphiphilen Kammpolymer basierend auf einem Polyol-Rückgrat mit positiv geladenen Seitenketten und einem Zusatzstoff, insbesondere einem sauren Arzneimittelwirkstoff, zur Behandlung von Erkrankungen beim Menschen und höheren Säugetieren.

Der Erfolg von Behandlungen mit pharmazeutischen Wirkstoffen hängt in starkem Maße von deren Bioverfügbarkeit im Organismus ab. Die Bioverfügbarkeit hängt wiederum stark mit der jeweiligen Applikationsform des Wirkstoffs zusammen. In den letzten Jahren wurden deshalb neue Verabreichungstechniken mit dem Ziel entwickelt, die Anwendung möglichst einfach und patientenschonend zu gestalten. In einer Vielzahl von Fällen wird dabei auf nanopartikuläre Transportvehikel vertraut, die die Wirkstoffe aufnehmen und am gewünschten Ort freisetzen können. Als allgemein vorteilhaft gelten dabei solche partikularen Systeme deren Träger bioabbaubar sind.

Ein wichtiger Applikationsweg für Medikamente und Wirkstoffe zur Behandlung von Erkrankungen der Lunge ist die inhalative Verabreichung. Die inhalative Applikation von Medikamenten wird darüber hinaus zunehmend zur Behandlung von systemische Erkrankungen eingesetzt, da eine Vielzahl von Wirkstoffen, die alveolär deponiert werden, schnell in das Blut übertreten. Für beide Anwendungen ist ein nanopartikuläres Transportvehikel vorteilhaft, weil die Wirkstoffe nach Deposition der Nanopartikel in der Lunge kontinuierlich freigesetzt werden, so dass konstante Wirkstoffspiegel erzielt werden und sich die Anzahl der erforderlichen Inhalationen reduzieren lässt. Eine wichtige Voraussetzung für die inhalative Anwendung eines nanopartikulären Transportvehikels ist jedoch die

Zerstäubungsstabilität, d.h. die Stabilität der Vehikel gegenüber dem Prozess der Aerosolerzeugung.

In Breitenbach, Kissel Polymer 39, Seite 3261, (1998) wird z.B. ein Verfahren zur Herstellung von bioabbaubaren Kammpolymeren, die als Trägerkomponenten für solche Partikel dienen können, beschrieben. Die Synthese der Polymere erfolgt ausgehend von einem Polyvinylalkohol-Rückgrat an das hydrophobe Poly(milch-co-glycolsäure) Seitenketten (PVA-g-PLG) gepropft werden.

In Weiterführung der Arbeiten mit diesen Kammpolymeren wird die Einführung von Sulfobutyl-Seitengruppen in das PVA-g-PLG-Kammpolymer in DE19839515 und EP1132416 beschrieben, wobei die erhaltenen Polymere als Träger für peptidische Wirkstoffe, insbesondere für Impfstoffe genutzt werden.

Demgegenüber gelang es bisher nicht geeignete Polymere auf Basis solcher Polyol-Kammpolymere zur Verfügung zu stellen, die für den Transport negativ geladener Wirkstoffe geeignet sind.

Somit ist die Bereitstellung eines partikularen Transportsystems insbesondere für negativ geladene Arzneimittelwirkstoffe, bevorzugt zur inhalativen Applikation, wünschenswert. Dabei ist es vorteilhaft, wenn das partikulare Transportsystem zerstäubungsstabil ist.

Die Aufgabe wird durch bioabbaubare kolloidale Partikel gelöst, die

- a) amphiphile Kammpolymere, enthaltend ein wasserlösliches Polyol-Rückgrat, hydrophobe Seitenketten und primäre, sekundäre, tertiäre oder quartäre Aminogruppen tragende Seitenketten und
- b) als Stabilisator mindestens eine negativ geladene organische Base, die eine Lewis- oder Brönsted-Base sein kann, oder deren korrespondierende Säure, die eine Lewis- oder Brönsted-Säure sein kann,

enthalten, wobei

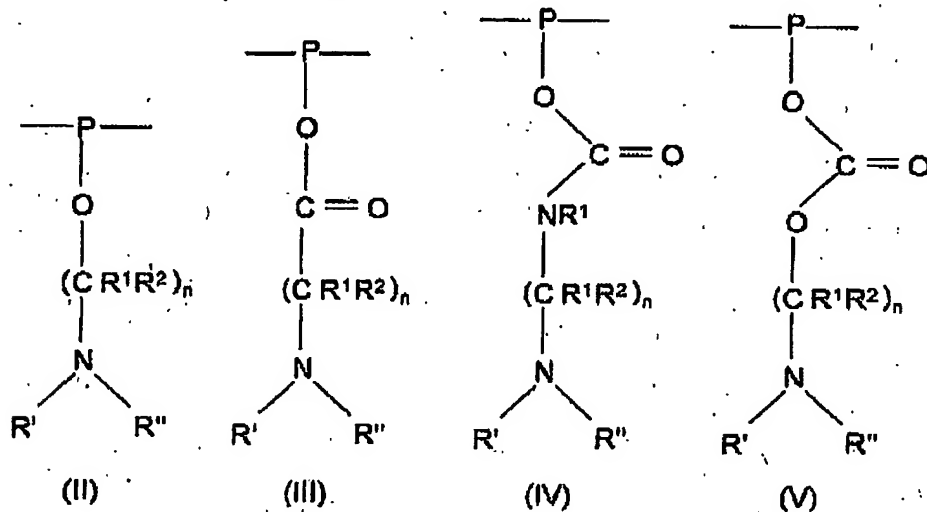
die sauren Gruppen der Stabilisatoren im Über- oder Unterschuss gegenüber den primären, sekundären oder tertiären Aminogruppen der Kammpolymeren vorliegen oder

- 5 die basischen Gruppen im Unter- oder Überschuss gegenüber den quartären Aminogruppen der Kammpolymeren vorliegen,

so dass die kolloidalen Partikel ein positives oder negatives Zeta-Potential aufweisen.

10

Bevorzugte Kammpolymere besitzen als Seitenketten die Aminogruppen tragenden Reste der Formel (II), (III), (IV) und/oder (V), wobei die Reste der Formel (IV) besonders bevorzugt sind.



15

wobei n eine ganze Zahl zwischen 1 und 24 darstellt und

20

P für das Polyol-Rückgrat steht und
 R', R'' unabhängig voneinander für H, (C₁-C₂₀)-Alkyl, (C₂-C₁₀)-Alkenyl, (C₂-C₁₀)-Alkynyl, (C₆-C₂₂)-Arylalkyl steht, wobei die Reste R' und R'' auch miteinander verknüpft sein können und

R^1, R^2

unabhängig voneinander für H, (C_1-C_{10}) -Alkyl, (C_2-C_{10}) -Alkenyl, (C_2-C_{10}) -Alkynyl, (C_6-C_{12}) -Aryl, (C_6-C_{22}) -Alkylaryl, (C_6-C_{22}) -Arylalkyl, (C_1-C_{10}) -Alkoxy, $-O(CO)Alkyl-(C_1-C_{10})$, $-(CO)O-Alkyl-(C_1-C_{10})$, $R'R''N-Alkyl-(C_1-C_{10})$ oder $-NR'R''$ steht,

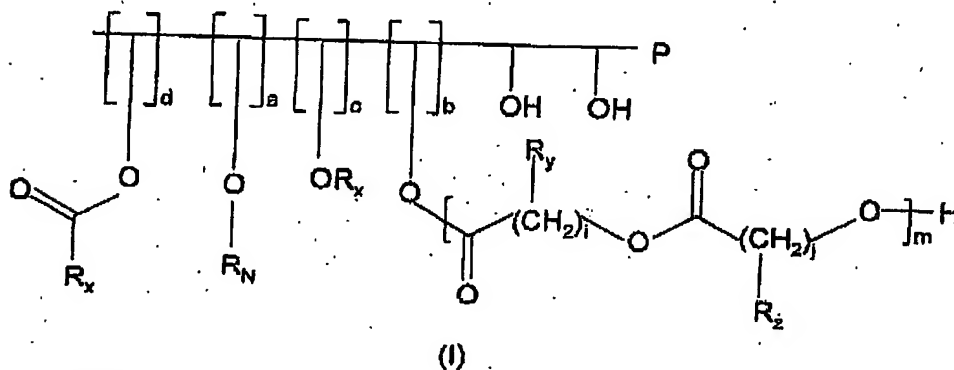
worin auch benachbarte Reste R^1 oder R^2 durch Doppel- oder Dreifachbindungen ersetzt sein können, so dass eine ein oder mehrfach ungesättigte Kohlenstoffkette vorliegt und

worin bis zu drei (CR^1R^2) -Gruppen durch eine Gruppe $-NR^1-$, $=N-$, $-O-$ oder $-(CO)O-$ ersetzt sein können, wobei zwei Ether- oder Ester-Gruppe nicht benachbart vorliegen und

worin auch mindestens zwei der Reste R^1, R^2 so miteinander verknüpft sein können, dass eine gesättigte oder ungesättigte alicyclische, heterocyclische, aromatische oder heteroaromatische Seitengruppe vorliegt und

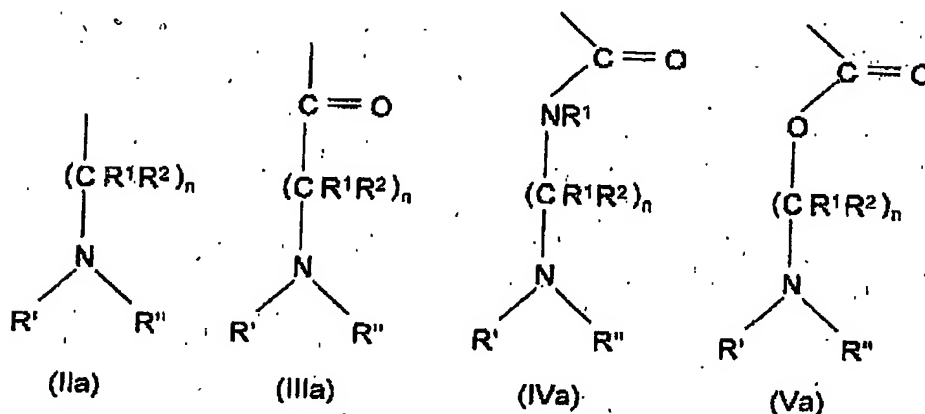
worin die Aminogruppen ganz oder teilweise als quartäre Amine der Form $-(NRR'R'')^+$ vorliegen können, wobei R für einen H, (C_1-C_{20}) -Alkyl, (C_2-C_{10}) -Alkenyl, (C_2-C_{10}) -Alkynyl oder einen (C_6-C_{22}) -Arylalkyl -Rest steht.

Besonders bevorzugte Kammpolymere zur Herstellung von kolloidalen Partikeln sind z. B. Polymere der Formel (I)



wobei

P ein Polyol-Rückgrat darstellt,
 R_N für eine Aminogruppen tragende Seitenketten gemäß den Formeln
 (IIa), (IIIa), (IVa) und/oder (Va) steht,



und

R_x, R_y und R_z für jeden einzelnen dieser Reste und für jedes Monomer
 unabhängig voneinander für eine Gruppe ausgewählt aus H, (C₁-
 C₁₀)-Alkyl, (C₅-C₁₂)-Aryl, (C₆-C₂₂)-Alkylaryl und (C₆-C₂₂)-Arylalkyl
 steht und worin R_x auch eine -(CO)NR'R'' Gruppe darstellen kann
 und worin R_y und R_z auch eine Hydroxyl-, (C₁-C₁₀)-Alkoxy, Carboxy-,
 eine OCOAlkyl-(C₁-C₁₀) oder eine O(CO)OAlkyl-(C₁-C₁₀) -Gruppe
 darstellen können und worin

i und j unabhängig voneinander für eine ganze Zahl zwischen 1 und 10
 steht und worin

m eine ganze Zahl zwischen 1 und 100 sein kann und

n eine ganze Zahl zwischen 1 und 24 darstellt

und worin die Reste

R', R'', R¹, R² die oben genannte Bedeutung besitzen,

und wobei

die Aminogruppen ganz oder teilweise als quartäre Amine der Form

$-(NRR'R'')^+$ vorliegen können, wobei R für einen H , (C_1-C_{20}) -Alkyl, (C_2-C_{10}) -Alkenyl, (C_2-C_{10}) -Alkynyl oder einen (C_6-C_{22}) -Arylalkyl -Rest steht,

und wobei bezogen auf die Anzahl der Hydroxyfunktionen n_{OH} des freien Polyol-Rückgrates

- a so gewählt ist, dass die Aminogruppen tragenden Seitenketten einen Anteil von 0,5 % bis 50 % besitzen
- b so gewählt ist, dass die hydrophoben Seitenketten einen Anteil von 1 % bis 90 % besitzen und
- c, d unabhängig voneinander so gewählt werden können, dass die Ether- und Ester-Seitenketten einen Anteil zwischen 0 % und 98,5 % besitzen, wobei der Anteil dieser Seitengruppen zusammen unter $n_{OH} - (a+b)$ % liegt.

Für R, R', R'', R¹ und R² sind Reste ausgewählt aus der Gruppe H, (C_1-C_{10}) -Alkyl besonders bevorzugt. Bevorzugt können die Reste R¹ und R² auch so gewählt werden, dass ein 5 bis 7 gliedriges aromatisches oder heteroaromatisches System, wie z. B. eine Phenyl, Naphthyl-, Pyrimidyl-, Pyrölyl-, Imidazolyl- haltige Seitenkette, vorliegt.

In besonders bevorzugten Kammpolymeren ist das wasserlösliche Polyol-Rückgrat P ausgewählt aus der Gruppe der Polyalkohole, der Polyvinylalkohole, der Polyvinylacetate, der Polysaccharide und der Dextrane.

Besonders bevorzugte Kammpolymere besitzen hydrophobe Seitenketten ausgewählt aus der Gruppe der Polylaktide, der Polyglykolide, der Poly(laktid-co-glykolide), der Polytartrate, der Polycaprolactone, der Poly(laktid-co-ε-caprolactone), der Poly(glykolid-co-ε-caprolactone) oder der Poly(laktid-co-glykolid-co-ε-caprolactone).

Der Anteil hydrophober Seitenketten bezogen auf die Hydroxyfunktionen des Rückgrats liegt bevorzugt zwischen 20% und 80%, besonders bevorzugt zwischen

40% und 70%. Der Anteil an Aminogruppen tragenden Seitenketten liegt bevorzugt zwischen 2 % und 35 % und besonders bevorzugt zwischen 10 % und 25 %.

5 Solche Kammpolymere, ob sie nun mit positiv geladenen Seitenketten (quartäre Aminogruppen) oder in ungeladener Form vorliegen bilden alleine keine stabilen kolloidalen Partikel, insbesondere nicht in wässrigen Lösungen. In Gegenwart organischer Lösemittel die mit Wasser mischbar sind, wie sie bei der Herstellung kolloidaler Partikel verwendet werden, sowie nach der Entfernung des
10 organischen Lösemittels, bleiben die Polymere häufig in gelöster Form erhalten und zeigen die gewünschte Partikelbildung nicht. Somit können mit den beschriebenen aminogruppenhaltigen Kammpolymeren alleine keine definierbaren, stabilen kolloidalen Partikel erzeugt werden.

15 Es konnte allerdings beobachtet werden, dass unter Verwendung der oben beschriebenen Kammpolymere sehr stabile kolloidale Partikel hergestellt werden können, wenn negativ geladene Verbindungen, insbesondere Polyanionen, wie z.B. Dextran-Sulfat, Carboxymethylcellulose oder Nukleinsäuren bei der Herstellung der Partikel zugesetzt werden. Aber auch die Stabilisierung der
20 Partikel mit kleineren negativ geladenen Molekülen ist möglich. Dabei werden insbesondere durch einen Überschuss von negativ geladenen Stabilisatoren sehr stabile Partikel in einem Größenbereich von 50 nm bis 1 µm erhalten, wobei die Partikelgröße von dem Stabilisator, aber auch von dem Überschuss an negativen Ladungen im Partikel abhängt, wodurch auch leicht Partikel mit einem
25 Durchmesser von deutlich unter 1 µm erhalten werden können. Damit eröffnet sich der Weg die Größe der Partikel auf ein gewünschtes Maß einzustellen. Dabei sind für pharmazeutische Applikationen in der Regel kleinere Partikel von 50 nm bis 500 nm, insbesondere von 100 bis 250 nm, bevorzugt, die genügend Wirkstoff aufnehmen können und gleichzeitig, besonders im Hinblick einer inhalativen
30 Aufnahme des Wirkstoffes, eine feine Verteilung zulassen. Dabei sind die erhaltenen kolloidalen Partikel sehr stabil, was insbesondere im Hinblick auf die geringe Neigung der reinen Kammpolymere Kolloide zu bilden überrascht.

Der Über- oder Überschuss an negativen Ladungen der nötig ist, um stabile kolloidale Partikel zu generieren, kann durch die Bestimmung des Zeta-Potentials der Partikel bestimmt werden. Dabei sind in Abhängigkeit des verwendeten Stabilisators, Zeta-Potentiale zwischen -5 und -80 mV oder zwischen +5 und +80 mV geeignet. Bevorzugt sind Zeta-Potentiale zwischen -10 und -50 mV oder zwischen +10 und +50 mV. Dabei liegt das Zeta-Potential insbesondere für Polyanionen, niedermolekulare negativ geladenen Ionen und Mischungen aus Polyanionen und niedermolekularen Wirkstoffen besonders bevorzugt zwischen -20 und -40 mV und zwischen +20 und +40 mV.

Bevorzugt wird als Stabilisator direkt ein pharmazeutischer Wirkstoff oder eine Kombination enthaltend mehrere pharmazeutische Wirkstoffe oder eine Kombination aus einem oder mehreren pharmazeutischen Wirkstoffen und einem Hilfsstoff eingesetzt, wobei zumindest ein verwendeter pharmazeutischer Wirkstoff eine negativ geladene organische Base oder deren korrespondierende Säure ist. Durch die direkte Verwendung des Wirkstoffes als Stabilisator kann auf den Zusatz weiterer Hilfsstoffe verzichtet werden. Gleichzeitig wird dadurch die Aufnahmekapazität in Bezug auf den Wirkstoff erhöht.

Insbesondere geeignete Wirkstoffe sind saure pharmazeutische Wirkstoffe. Besonders bevorzugt lassen sich pharmazeutische Wirkstoffe ausgewählt aus der Gruppe der Carbonsäuren, Sulfonsäuren oder Phosphorsäuren zu kolloidalen Partikeln verarbeiten, wobei über eine Säure-Base Reaktion die Aminogruppen des Polymers quartärnisiert und der Wirkstoff in ein negativ geladenes Molekül umgewandelt wird.

Ein Beispiel für einen solche Wirkstoffgruppe stellen die Prostanole dar, worunter z. B. Iloprost®, ein Wirkstoff zur Behandlung von pulmonaler Hypertonie fällt.

Wirkstoffe deren Azidität nicht ausreichend ist oder die direkt als negativ geladenes Molekül bei der Herstellung der kolloidalen Partikel verwendet werden,

durch Einatmen und die feine Wirkstoffverteilung der eingeatmeten Partikel in der Lunge gewährleistet. Somit kann die Bioverfügbarkeit eines inhalierten Wirkstoffes durch die Verwendung der erfindungsgemäßen Partikeln stark erhöht werden.

- 5 Aus den genannten Gründen erschließt sich die einfache und patientenschonende inhalative Wirkstoffapplikation über die alveolare Region der Lunge durch die Verwendung der beanspruchten kolloidalen Partikel.

- 10 Darüber hinaus werden die Partikel biologisch langsam abgebaut, so dass eine kontinuierliche Wirkstofffreisetzung über längere Zeiträume gewährleistet ist. Somit eignen sich die beanspruchten Partikel in besonderem Maße als Transportvehikel zur Behandlung von pulmonalen und systemischen Erkrankungen sowohl beim Menschen als auch bei höheren Tieren.

- 15 Insbesondere die positiv geladenen kolloidalen Partikel eignen sich zur mucosalen Applikation von pharmazeutischen Wirkstoffen, da sie besonders gut an Schleimhäuten haften bleiben und durch adsorptive Endocytose aufgenommen werden können. Die Verwendbarkeit der Partikel ist bleibt aber nicht auf die genannten Applikationen beschränkt, sondern es können auch andere
- 20 Verabreichungsformen, wie z.B. die sublinguale, buccale, orale, nasale, vaginale, okulare oder gastrointestinale Applikation, gewählt werden.

Die erfindungsgemäßen kolloidalen Partikel können z.B. nach folgendem Verfahren gewonnen werden:

- 25 a) lösen eines Kammpolymers, enthaltend ein wasserlösliches Polyol-Rückgrat, hydrophobe Seitenketten und primäre, sekundäre, tertiäre oder quartäre Aminogruppen tragende Seitenketten in einem mit wasser mischbaren, flüchtigen organischen Lösemittel und
- 30 b) versetzen einer isotonischen wässrigen Lösung mit einem pH-Wert zwischen 6,0 und 8,0 enthaltend neben einem Zucker und einem Puffer, eine organische Säure, die eine Lewis- oder Brönsted-Säure sein kann,

oder deren korrespondierende Base, die eine Lewis- oder Brönsted-Base sein kann, mit der aus a) erhaltenen Lösung,

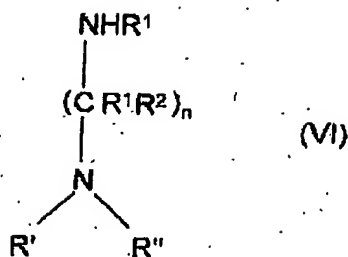
- c) rühren der aus (b) erhaltenen Lösung zur Herstellung kolloidaler Partikel und
- d) entfernen des organischen Lösemittels.

Bei der Herstellung der isotonischen Lösung kann auf bioverträgliche Zucker und Puffer, wie z. B. Glucose und Tris-EDTA-Puffer, zurückgegriffen werden.

Zur Herstellung der Kammpolymere kann ein Polyolrückgrat, wie in Breitenbach, Kissel Polymer 39, Seite 3261, (1998) oder in EP1132416 beschrieben, mit hydrophoben Seitenketten gepfropft werden. Die Hydrophobizität der resultierenden Kammpolymere kann schon beim Pfropfen (z. B. mittels Melt-Grafting-Verfahren) durch die Menge an zugesetzten Seitenkettenmonomeren eingestellt werden. Für Polyvinylalkohole mit ca. 300 Hydroxygruppen hat sich der Zusatz von Lactiden/Glycoliden in einem Gewichtsverhältnis von 1:1 bis 1:50, bevorzugt von 1:5 bis 1:30 bewährt.

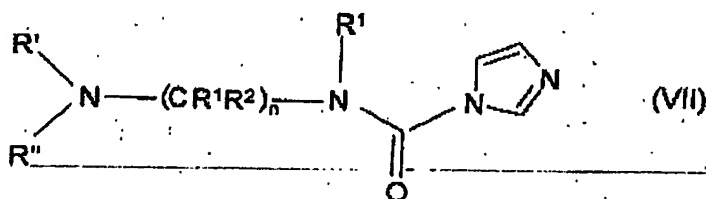
Die Anbindung der Aminogruppen tragenden Seitenketten erfolgt in der Regel vor der Pfropfung mit den hydrophoben Seitenketten. Zur Anbindung von Seitenketten der Formel (IIa) kann z.B. ein Chloralkylammoniumchlorid mit einer freien Hydroxygruppe des Polyolrückgrats umgesetzt werden. Seitenketten der Formel (IIIa) können z.B. durch eine Veresterung der entsprechenden Aminosäure erhalten werden. Die Herstellung von Polymeren mit Seitenketten der Formel (Va) kann durch Umsetzung des Alkohols mit Phosgen und anschließender Zugabe des Polyols erfolgen.

Zur Herstellung von Kammpolymeren mit einem Polyol-Rückgrat, die Seitenketten der Formel (IVa) tragen musste eine eigene Synthese entwickelt werden, wobei ausgehend von einem Diamin der Formel (VI)



wobei die Reste R' , R'' , R^1 , R^2 die oben genannte Bedeutung haben,

5 das mit Carbonyldiimidazol umgesetzt wird, ein Carbonylimidazol-Amin (Formel (VII))

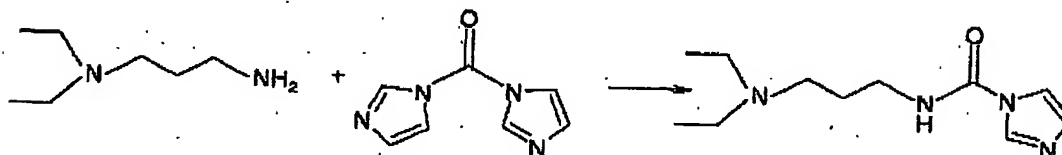


10 erhalten wird, das in Gegenwart eines Aminopyridins unter Bildung einer Urethanverknüpfung an eine freie Hydroxygruppe des Polymerückgrats gebunden werden kann.

15 Im folgenden werden die Erfindung an einigen Ausführungsbeispielen verdeutlicht, die nicht als einschränkend anzusehen sind.

Beispiel 1: Herstellung von Polyvinylalkohol-Kammpolymeren mit Aminogruppen tragenden Seitenketten

1.1. Herstellung von tertiären Carbonylimidazolalkylaminen

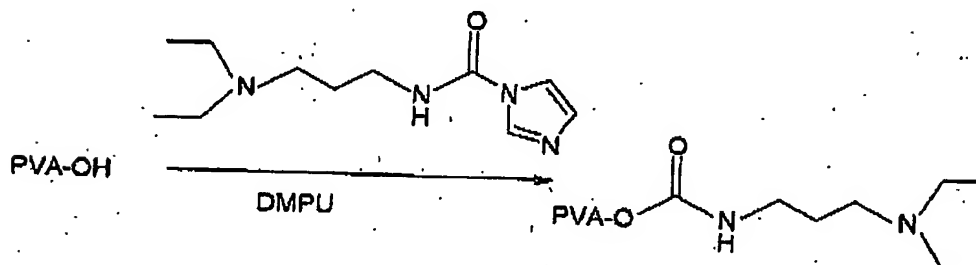


1,62 g (10 mmol) Carbonyldiimidazol (CDI) werden in 20 ml wasserfreiem THF gelöst, anschließend werden 10 mmol eines Amins (3-Dimethylaminopropylamin, 3-Diethylaminopropylamin oder 2-Diethylaminoethylamin) zugetropft. Die Reaktionslösung wird 17 h bei Umgebungstemperatur gerührt, danach wird das Lösemittel abgezogen.

Die Überprüfung des Reaktionsansatzes mittels NMR ergab eine nahezu 100%ige Umsetzung.

In einem weiteren Ansatz wird ein Diamin (3-Dimethylaminopropylamin (DMAPA), 3-Diethylaminopropylamin (DEAPA) oder 2-Diethylaminoethylamin (DEAEA)) zusammen mit CDI in wasserfreiem THF gelöst. Das Reaktionsprodukt wird analog zu 1.1. aufgearbeitet.

1.2. Synthese von modifizierten Polyvinylalkoholen (PVA)



Eine gemäß Tabelle 1 angegebene Menge an PVA (Polymerisationsgrad (PG) 300) wird in 170 ml wasserfreiem NMP (N-Methylenpyrrolidon) unter Stickstoffatmosphäre gelöst. Anschließend wird 1,3-Dimethyl-3,4,5,6-tetrahydro-2(H1)-pyrimidinon (DMPU) zugesetzt. Danach erfolgt die Zugabe des unter 1.1. hergestellten und in wasserfreiem NMP aufgenommenen Amin-Carbonylimidazols (Amin-Cl). Die Reaktionslösung wird bei 80 °C 4 bis 6 Tage gerührt. Anschließend wird der Ansatz ultrafiltriert und das erhaltene Polymer lyophilisiert und im Vakuum bei 43 °C zur Weiterverarbeitung gelagert.

Eine qualitative Überprüfung des Reaktionserfolges wird mittels FT-IR (Nicolet FT-IR 510P) durchgeführt. Dazu wird das Polymer mit KBr in Pellet-Form gepresst. Der Nachweis der Substitution des Polyvinylalkoholrückgrats erfolgt anhand des Signals der Urethangruppe bei 1696 cm^{-1} .

Zur Bestimmung des Anteils an Aminogruppen tragenden -Seitengruppen werden die erhaltenen Polymere in d_6 -DMSO gelöst und mittels ^1H -NMR (Joel Eclipse 500; GX4000D) vermessen. Zur quantitativen Auswertung wurden die Signale der Amingruppe bei $\delta = 2,99, 2,21, 2,12, 1,53$ (DMAPA) $\delta = 6,89, 2,99, 2,42, 2,36, 0,94$ (DEAPA) herangezogen.

Die Ansätze und Ergebnisse sind in Tabelle 1 und 2 wiedergegeben.

Tabelle 1:

Eingesetztes Amin: Dimethylaminopropylamin (DMAPA)

	Ansatz	Prozentualer Anteil an Amin-substituenten
1	12,00g PVAL, 1,20g Amin-Cl, 0,07g DMPU, 200ml NMP	2,3%
2	12,00g PVAL, 2,40g Amin-Cl, 0,16g DMPU, 200ml NMP	4,4%
3	12,00g PVAL, 4,80g Amin-Cl, 0,31g DMPU, 170ml NMP	7,1%
4	12,00g PVAL, 11,99g Amin-Cl, 0,78g DMPU, 170ml NMP	10,8%
5	11,00g PVAL, 23,08g Amin-Cl, 1,51g DMPU, 170ml NMP	23,0%

Eingesetztes Amin: Diethylaminopropylamin: (DEAPA)

	Ansatz	Prozentualer Anteil an Amin-substituenten
6	10,00g PVAL, 1,00g Amin-Cl, 0,07g DMPU, 200ml NMP	2,1%
7	10,00g PVAL, 2,01g Amin-Cl, 0,06g DMPU, 170ml NMP	4,0%
8	10,00g PVAL, 4,02g Amin-Cl, 0,11g DMPU, 170ml NMP	5,9%
9	10,00g PVAL, 10,05g Amin-Cl, 0,23g DMPU, 120ml NMP	10,9%
10	10,00g PVAL, 23,12g Amin-Cl, 1,32g DMPU, 170ml NMP	22,7%

Zur Überprüfung der durch die NMR gewonnenen Ergebnisse werden 5 mg des erhaltenen Polymers mit einem TGA7 (Perkin Elmer) unter Stickstoffatmosphäre bei 20 °C im Vakuum thermo-gravimetrisch untersucht. Die Ergebnisse sind in Tabelle 2 zusammengefasst.

Tabelle 2:

Polymer (PG 300)	Molekulargewicht (aus ¹ H-NMR)	Anzahl der Amingruppen tragenden Seitenketten pro Polymer	Massenverlust bestimmt mit TGA nach dem ersten Abbauschritt (250-400°C)	Massenverlust erwartet nach ¹ H-NMR
1	15318,14	2,25%	4,81 %	7,59 %
2	15885,98	4,35 %	11,80 %	14,15 %
3	16754,20	7,10 %	20,04 %	21,89 %
4	17875,22	10,76 %	38,94 %	31,10 %
5	22424,22	23,04 %	60,67 %	53,08 %
6	15461,20	2,10	9,02	8,16
7	16100,74	4,00	12,81	14,93
8	16692,34	5,90	38,19	21,24
9	18406,27	10,87	40,53	35,48
10	2311,77	22,70	58,47	57,04

1.3. Graft-Polymerisation mit L-Lactid

0,500 g des modifizierten PVA-Rückgrats aus 1.2. werden mit 5,00 g L-Lactid in einem Rundkolben unter Stickstoffatmosphäre umgesetzt. Zu dem Reaktionsansatz werden 0,113 g SnOct_2 als Katalysator addiert. Zur Initiierung der Polymerisation wird der Kolben in ein vorgewärmtes 150 °C heißes Ölbad gesenkt, wobei die Reaktionslösung unter Verwendung eines Magnetrührers kontinuierlich gerührt wird. Nach 3 h wird das Ölbad durch ein kaltes Wasserbad ersetzt, danach wird zu der Reaktionsmischung Aceton aufgenommen. Polymerlösung wird in 250 ml Wasser/Isopropanol (1:1) präzipitiert. Nach Filtration des Reaktionsproduktes wird das erhaltene Polymer bei Umgebungstemperatur im Vakuum getrocknet. Der Erfolg der Umsetzung kann mittels $^1\text{H-NMR}$ überprüft werden.

1.4. Herstellung von Poly(laktid-co-glykolid) Gruppen tragenden Polyvinylalkoholen

Das erhaltene Amin-modifizierte Polymer wird mit einer Mischung aus D,L-Laktid und Glykolid (1:1) umgesetzt. Das Verhältnis des eingesetzten Polymers zu der Laktid/Glykolid-Mischung beträgt in den durchgeführten Ansätzen 1:1; 1:2; 1:10 und 1:20 stöchiometrische Anteile bezogen auf die freien Hydroxygruppen des PVA-Rückgrats. Der Reaktionsansatz wird mit ca. 10 mol% $\text{Sn(II) 2-ethylhexanoat}$ und SnOct_2 versetzt. Nach einer Polymerisationsdauer von 3 h bei 150 °C wird der Reaktionsansatz schnell auf Umgebungstemperatur abgekühlt. Die Reaktionsmischung wird in Aceton aufgenommen und zur Reinigung mit einer Mischung aus Isopropanol/Wasser oder Wasser präzipitiert. Das isolierte Polymer wird bei 20 °C im Vakuum getrocknet.

Der Erfolg der Umsetzung wird mittels $^1\text{H-NMR}$ überprüft, das Ergebnis ist beispielhaft für Polymer Ansatz 10 aus Beispiel 1.2 und PVA :Glykolid/Lactid Ansatz von 1:20 wiedergegeben.

$^1\text{H-NMR}$: $\delta = 5,56-5,03, 2,04-1,54$ (PVAL-Signale).

5,21 (Lactid), 4,22, 1,46 (Lactid-Endgruppe),

1,30 (Lactiden-Endgruppe)

4,86 (Glycolid), 4,08 (Glykolid-Endgruppe)

Integrale: Lactid Zentral zu End 11:1

Integrale: Glycolid zu Lactid Endgruppen 1,6 : 21,8 das ergibt ein
Verhältnis von Lactid : Glycolid in Seitenketten: 56 : 44.

10 Beispiel 2: Präparation von kolloidalen Partikeln

10 mg des Kammpolymers (ca. 8% Diethylaminopropylamin-Seitenketten
(DEAPA); PVA zu Lactid/Glykolid 1: 20) hergestellt gemäß Beispiel 1. werden in
ca. 3 ml Aceton gelöst. In 10 ml Reinstwasser werden 100 μl Tris-EDTA Puffer
15 (low ionic strength 100x), eine definierte Menge an Stabilisator (als polymere
Stabilisatoren werden verwendet: Carboxymethylcellulose (CMC); Tylopur @ C
600, Hoechst AG; als niedermolekularer Stabilisator wird Rose Bengal verwendet)
und 0,5 g Glucose gegeben. Der pH-Wert der wässrigen Lösung wird mit
HCl/NaOH auf 7,0 eingestellt. Die wässrige Lösung wird anschließend mit einem
20 Nitrocellulose-Membranfilter mit einer Porengröße von 0,22 μm steril abfiltriert. Die
polymerhaltige Lösung wird durch eine 20Gx1½ Kanüle einer 5 ml Spritze
langsam, mit einer Geschwindigkeit von ca. 0,3 ml/min, in eine wässrige Phase,
die in einem Becherglas mit einem Magnetrührer vorgelegt ist, gespritzt. Während
des Einspritzens wird die Kanülenöffnung leicht an die Wand des Becherglases
gedrückt. Die resultierende Suspension wird 4 h unter leicht reduziertem Druck
gerührt bis das Aceton entfernt ist.

Die so hergestellten kolloidalen Lösungen können ohne Veränderung der
kolloidalen Partikel zerstäubt werden.

30 Der Einfluss des negativ geladenen Stabilisators auf die Bildung und die
Eigenschaften von kolloidalen Partikeln sind in den Tabellen 3 und 4 dargestellt.

Die Kolloidbildung wird optisch beobachtet, wobei eine opaleszente Mischung die Bildung kolloidaler Partikel anzeigt.

Tabelle 3:

Stabilisator	Menge (μg)	Partikeldurchmesser (nm)	Zeta-Potential (mV)	Beobachtung
CMC	2000	213,6 \pm 3,0	-46,6 \pm 1,1	opaleszent
	1000	215,5 \pm 2,9	-28,4 \pm 0,4	opaleszent
	500	202,5 \pm 1,5	-23,0 \pm 0,5	opaleszent
	250	202,5 \pm 2,9	-16,6 \pm 0,3	wolkig trüb
	100	256,6 \pm 4,6	39,9 \pm 0,3	wolkig/flockig
	50	241,4 \pm 1,9	45,6 \pm 0,7	wolkig/flockig
	25	177,8 \pm 1,0	47,6 \pm 1,7	opaleszent
	0	76,2 \pm 8,8	58,9 \pm 1,9	klar

Tabelle 4 :

Stabilisator	Menge (μg)	Menge (μmol)	Partikeldurchmesser (nm)	Zeta Potential (mV)	Beobachtung
Rose Bengal	2840	0,26	392,8 \pm 7,9	---	wolkig
	1360	0,17	246,7 \pm 6,1	-22,2 \pm 0,4	opaleszent
	900	0,11	---	---	flockig

Die Bestimmung der Größe der kolloidalen Partikel wird mittels Photonen-Korrelations- Spektrometrie (PCS) durchgeführt. Die Messung des Zeta-Potentials erfolgt mittels Laser-Doppler-Anemometrie mit Hilfe eines Zetasizer 4/AZ 104 (Malvern Instruments, Malvern, UK).

Beispiel 3: Prüfung der Vernebelungsstabilität

Es wird eine Suspension aus CMC-haltiger kolloidaler Partikel gemäß Beispiel 2 hergestellt.

Analog wird eine Suspension kolloidaler RG 503 Partikel (50 mg in 10 ml Aceton; Polymer RG 503 Resomer®, Boehringer Ingelheim, Deutschland) mit 0,0025% Alveofact® (Boehringer Ingelheim) mit der Solvent-Displacement-Methode (Jung T., et al. J. Controlled Release 67, 157-169, (2000)) erzeugt.

Die Suspensionen werden mit einem kommerziellen Düsenvernebler (Pari LC Star) unter anlegen eines Druckluft-Gasflusses durch den Vernebler von 20 l/min zerstäubt. Das Aerosol wird mit einer gereinigten Glasplatte aufgefangen. 1 ml des aufgefangenen Aerosols werden anschließend in 29 ml destilliertem Wasser aufgenommen. Zur Charakterisierung des vernebelten Aerosols werden die aufgenommenen Suspensionen CMC haltiger kolloidaler Partikel und als Vergleich der kolloidalen RG 503 Partikel mit einem Laser-Diffraktometer (Sympatec GmbH, Claustal-Zellerfeld, Deutschland) vermessen. Die Ergebnisse sind in Fig. 1 dargestellt.

Bei der Interpretation der Messdaten, erhalten durch die Laser-Diffraktion ist zu beachten, dass die verwendete Messmethode sehr gut geeignet ist Veränderungen in der Partikelgrößenverteilung zu bestimmen. Die absoluten Werte für den mittleren Durchmesser kleiner Partikel (kleiner 1 µm) können wesentlich genauer mittels Photonen-Korrelations- Spektroskopie (PCS) bestimmt werden. Die entsprechenden Werte sind in Beispiel 2, Tabelle 3 angegeben.

Wie in Fig. 1 gezeigt, zeichnen sich die erfindungsgemäßen Partikel durch eine ungewöhnlich gute Vernebelungsstabilität aus. Die Partikelgrößenverteilung vor (Fig. 1 a)) und nach (Fig. 1 b)) der Vernebelung bleibt nahezu erhalten. RG 503 besitzt im unvernebelten Zustand (Fig. 1 c) eine ähnliche Partikelgrößenverteilung

wie die beanspruchten Partikel. Nach der Vernebelung besitzt RG 503 allerdings eine starke Neigung zur Aggregation (Fig. 1 d), wodurch der Anteil von Partikeln mit größeren Durchmesser stark ansteigt.

Patentansprüche:**5 1. Bioabbaubare kolloidale Partikel umfassend**

a) amphiphile Kammpolymere enthaltend ein wasserlösliches Polyol-Rückgrat, hydrophobe Seitenketten und primäre, sekundäre, tertiäre oder quartäre Aminogruppen tragende Seitenketten und

10 b) als Stabilisator mindestens eine negativ geladene organische Base, die eine Lewis- oder Brönsted-Base sein kann, oder deren korrespondierende Säure, die eine Lewis- oder Brönsted-Säure sein kann,

15 wobei

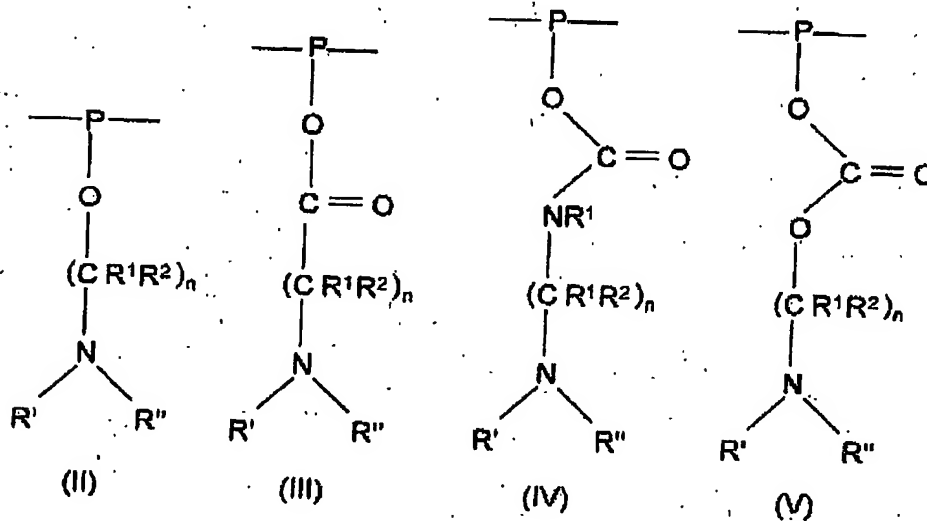
die sauren Gruppen der Stabilisatoren im Über- oder Unterschuss gegenüber den primären, sekundären oder tertiären Aminogruppen der Kammpolymere vorliegen, oder

20 die basischen Gruppen im Unter- oder Überschuss gegenüber den quartären Aminogruppen der Kammpolymeren vorliegen, so dass die kolloidalen Partikel ein positives oder negatives Zeta-Potential aufweisen.

25 2. Bioabbaubare kolloidale Partikel gemäß Anspruch 1 dadurch gekennzeichnet, dass die organische Base oder deren korrespondierende Säure ein pharmazeutischer Wirkstoff oder eine Kombination enthaltend mehrere pharmazeutische Wirkstoffe oder eine Kombination aus einem oder mehreren pharmazeutischen Wirkstoffen und einem Hilfsstoff ist.

30 3. Bioabbaubare kolloidale Partikel gemäß Anspruch 2 dadurch gekennzeichnet, dass der pharmazeutische Wirkstoff eine Carbonsäure, eine Sulfonsäure oder eine Phosphorsäure ist.

4. Bioabbaubare kolloidale Partikel gemäß Anspruch 3 dadurch gekennzeichnet, dass der Wirkstoff ein Prostanoid ist.
5. Bioabbaubare kolloidale Partikel gemäß Anspruch 3 dadurch gekennzeichnet, dass der Wirkstoff Iloprost® ist.
6. Bioabbaubare kolloidale Partikel gemäß einem der vorherigen Ansprüche dadurch gekennzeichnet, dass die Aminogruppen tragenden Seitenketten Reste der Formel (II), (III), (IV) und/oder (V) sind,



wobei n eine ganze Zahl zwischen 1 und 24 darstellt und

P für das Polyol-Rückgrat steht und
 R', R'' unabhängig voneinander für H, (C₁-C₂₀)-Alkyl, (C₂-C₁₀)-Alkenyl, (C₂-C₁₀)-Alkynyl, (C₆-C₂₂)-Arylalkyl steht, wobei die Reste R' und R'' auch miteinander verknüpft sein können und unabhängig voneinander für H, (C₁-C₁₀)-Alkyl, (C₂-C₁₀)-Alkenyl, (C₂-C₁₀)-Alkynyl, (C₆-C₁₂)-Aryl, (C₆-C₂₂)-Alkylaryl, (C₆-

C_{22} -Arylalkyl, (C_1-C_{10}) -Alkoxy, $-O(CO)Alkyl-(C_1-C_{10})$, $-(CO)O-Alkyl-(C_1-C_{10})$, $R'R''N-Alkyl-(C_1-C_{10})$ oder $-NR'R''$ steht,

worin auch benachbarte Reste R^1 oder R^2 durch Doppel- oder Dreifachbindungen ersetzt sein können, so dass eine ein oder mehrfach ungesättigte Kohlenstoffkette vorliegt und

worin bis zu drei (CR^1R^2) -Gruppen durch eine Gruppe $-NR^1-$, $=N-$, $-O-$ oder $-(CO)O-$ ersetzt sein können, wobei zwei Ether- oder Ester-Gruppe nicht benachbart vorliegen, und

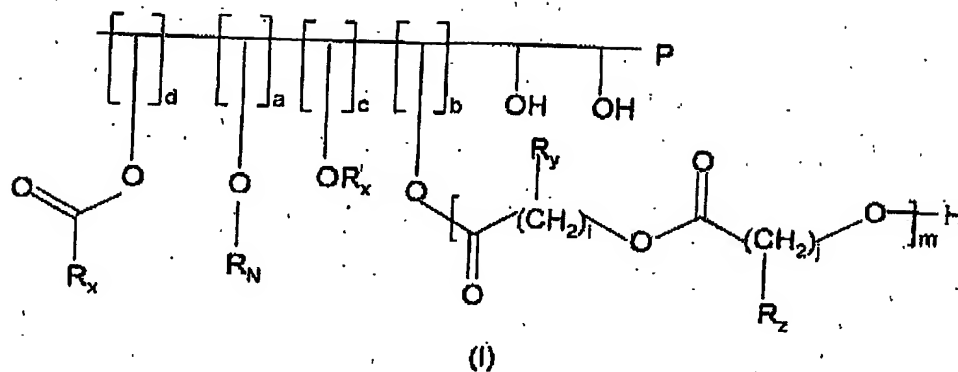
worin auch mindestens zwei der Reste R^1 , R^2 so miteinander verknüpft sein können, dass eine gesättigte oder ungesättigte alicyclische, heterocyclische, aromatische oder heteroaromatische Seitengruppe vorliegt und

worin die Aminogruppen ganz oder teilweise als quartäre Amine der Form $-(NRR'R'')^+$ vorliegen können, wobei R für einen H, (C_1-C_{20}) -Alkyl, (C_2-C_{10}) -Alkenyl, (C_2-C_{10}) -Alkinyl oder einen (C_6-C_{22}) -Arylalkyl -Rest steht.

7. Bioabbaubare kolloidale Partikel gemäß einem der vorherigen Ansprüche dadurch gekennzeichnet, dass das Kammpolymer ein wasserlösliches Polyol-Rückgrat ausgewählt aus der Gruppe der Polyalkohole, der Polyvinylalkohole, der Polyvinylacetate, der Polysaccharide und der Dextrane, besitzt.
8. Bioabbaubare kolloidale Partikel gemäß einem der vorherigen Ansprüche dadurch gekennzeichnet, dass das Kammpolymer hydrophobe Seitenketten ausgewählt aus der Gruppe der Polylaktide, der Polyglykolide, der Poly(laktid-co-glykolide), der Polytartrate, der Polycaprolactone, der Poly(glykolid-co- ϵ -caprolactone), Poly(laktid-co- ϵ -caprolactone) oder der Poly(laktid-co-glykolid-co- ϵ -caprolactone) besitzt.

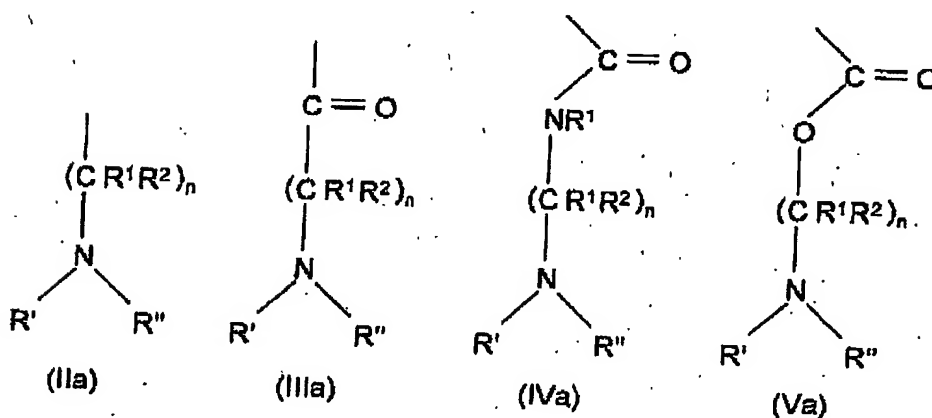
- 5
9. Bioabbaubare kolloidale Partikel gemäß einem der vorherigen Ansprüche dadurch gekennzeichnet, dass an 0,5 bis 50% der Hydroxygruppen des Polyol-Rückgrates des Kammpolymers Aminogruppen tragende Seitenketten geknüpft sind und an 1 bis 90% der Hydroxygruppen des Polyolrückgrates hydrophobe Seitenketten geknüpft sind.
- 10
10. Bioabbaubare kolloidale Partikel gemäß einem der vorherigen Ansprüche dadurch gekennzeichnet, dass die Aminogruppen des Kammpolymers zumindest teilweise quartäre Aminogruppen sind, die durch den Zusatz einer organischen Säure quartärnisiert und durch die dabei entstehende korrespondierende negative geladene organische Base stabilisiert wurden.
- 15
11. Bioabbaubare kolloidale Partikel gemäß einem der vorherigen Ansprüche dadurch gekennzeichnet, dass das Zeta-Potential zwischen -5 und -80 mV oder zwischen +5 und +80 mV liegt.
- 20
12. Bioabbaubare kolloidale Partikel gemäß einem der vorherigen Ansprüche dadurch gekennzeichnet, dass die organische Säure ein Prostonoid ist und das Zeta-Potential zwischen -10 und -50 mV oder zwischen +10 und +50 mV liegt.
- 30
13. Verwendung von bioabbaubaren kolloidalen Partikeln gemäß einem der Ansprüche 1 bis 12 zur Applikation eines sauren oder basischen pharmazeutischen Wirkstoffes zur Behandlung von Erkrankungen beim Menschen oder bei Säugetieren.
14. Verwendung von bioabbaubaren kolloidalen Partikeln gemäß einem der Ansprüche 1 bis 12 zur inhalativen (pulmonalen) Applikation des sauren oder basischen Wirkstoffs.

15. Verwendung von bioabbaubaren kolloidalen Partikeln gemäß einem der Ansprüche 13 oder 14, wobei der pharmazeutische Wirkstoff ein Prostanoid ist.
- 5 16. Verwendung von bioabbaubaren kolloidalen Partikeln gemäß einem der Ansprüche 13 bis 15 zur Behandlung der pulmonalen Hypertonie.
- 10 17. Verwendung gemäß einem der Ansprüche 13 bis 16 dadurch gekennzeichnet, dass die bioabbaubaren kolloidalen Partikeln in einer physiologisch verträglichen wässrigen Lösungen vorliegen.
- 15 18. Verfahren zur Herstellung von bioabbaubaren kolloidalen Partikeln gemäß einem der Ansprüche 1 bis 12 umfassend folgende Verfahrensschritte
- 20 a) lösen eines Kammpolymers, enthaltend ein wasserlösliches Polyol-Rückgrat, hydrophoben Seitenketten und primäre, sekundäre, tertiäre oder quartäre Aminogruppen tragende Seitenketten in einem mit Wasser mischbaren, flüchtigen organischen Lösemittel und
- 25 b) versetzen einer isotonischen wässrigen Lösung mit einem pH-Wert zwischen 6,0 und 8,0 enthaltend neben einem Zucker und einem Puffer, eine organische Säure, die eine Lewis- oder Brönsted-Säure sein kann, oder deren korrespondierende Base, die eine Lewis- oder Brönsted-Base sein kann, mit der Lösung erhalten aus a),
- 30 c) rühren der aus b) erhaltenen Lösung zur Herstellung kolloidaler Partikel und
- d) entfernen des organischen Lösemittels.
19. Kammpolymer der allgemeinen Formel (I),



wobei

P ein Polyol-Rückgrat darstellt,
 R_N für eine Aminogruppen tragende Seitenketten gemäß den Formeln
 (IIa), (IIIa), (IVa) und/oder (Va) steht,



und

R_x , R_y und R_z für jeden einzelnen dieser Reste und für jedes Monomer
 unabhängig voneinander für eine Gruppe ausgewählt aus H, (C₁-
 C₁₀)-Alkyl, (C₅-C₁₂)-Aryl, (C₆-C₂₂)-Alkylaryl und (C₆-C₂₂)-Arylalkyl
 steht und worin R_x auch eine $-(CO)NR'R''$ Gruppe darstellen kann
 und worin R_y und R_z auch eine Hydroxyl-, (C₁-C₁₀)-Alkoxy-, Carboxy-,
 eine OCOAlkyl-(C₁-C₁₀) oder eine O(CO)OAlkyl-(C₁-C₁₀) Gruppe
 darstellen können und worin

i und j unabhängig voneinander für eine ganze Zahl zwischen 1 und 10 steht und worin

m eine ganze Zahl zwischen 1 und 100 sein kann

und worin

R^1, R^2, R', R'' die in Anspruch 6 genannte Bedeutung haben

und wobei

die Aminogruppen ganz oder teilweise als quartäre Amine der Form $-(NRR'R'')^*$ vorliegen können, wobei R für einen H, (C_1-C_{20}) -Alkyl, (C_2-C_{10}) -Alkenyl, (C_2-C_{10}) -Alkynyl oder einen (C_6-C_{22}) -Arylalkyl -Rest steht,

und wobei bezogen auf die Anzahl der Hydroxyfunktionen n_{OH} des freien Polyol-Rückgrates

- a so gewählt ist, dass die Aminogruppen tragenden Seitenketten einen Anteil von 0,5 % bis 50 % besitzen
- b so gewählt ist, dass die hydrophoben Seitenketten einen Anteil von 1 % bis 90 % besitzen und
- c, d unabhängig voneinander so gewählt werden können, dass die Ether- und Ester-Seitenketten einen Anteil zwischen 0 % und 98,5 % besitzen, wobei der Anteil dieser Seitengruppen zusammen unter $n_{OH} - (a+b) \%$ liegt.

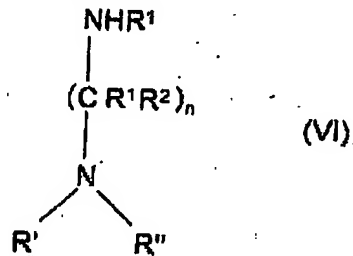
20. Kammpolymer gemäß Anspruch 19, dadurch gekennzeichnet, dass

- a so gewählt ist, dass die Aminogruppen tragenden Seitenketten einen Anteil von 2 % bis 35 % besitzen und
- b so gewählt ist, dass die hydrophoben Seitenketten einen Anteil von 40 % bis 70 % besitzen.

21. Kammpolymer gemäß einem der Ansprüche 19 oder 20 dadurch gekennzeichnet, dass die hydrophoben Seitenketten aus der Gruppe der Polylactid-, Polyglycolid, Poly(lactid-co-glycolid)-, Polytartrat-,

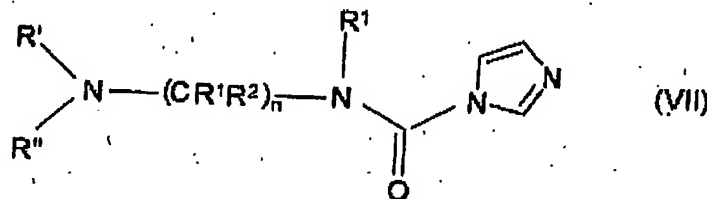
Polycaprolacton-, Poly(laktid-co-ε-caprolacton), Poly(glykolid-co-ε-caprolacton) und Poly(laktid-co-glykolid-co-ε-caprolacton) – Reste ausgewählt sind.

22. Verfahren zur Modifizierung von Kammpolymeren mit einem Polyolrückgrat mit Seitenketten der Formel (IV) nach Anspruch 6 dadurch gekennzeichnet, dass ein Diamin der Formel (VI),



wobei die Reste R', R'', R¹, R² die in Anspruch 6 genannte Bedeutung haben,

mit Carbonyldiimidazol umgesetzt wird und das erhaltene Carbonylimidazol-Amin (Formel (VII))



In Gegenwart eines Aminopyridins unter Bildung einer Urethanverknüpfung an eine freie Hydroxygruppe des Polyolrückgrats gebunden wird.

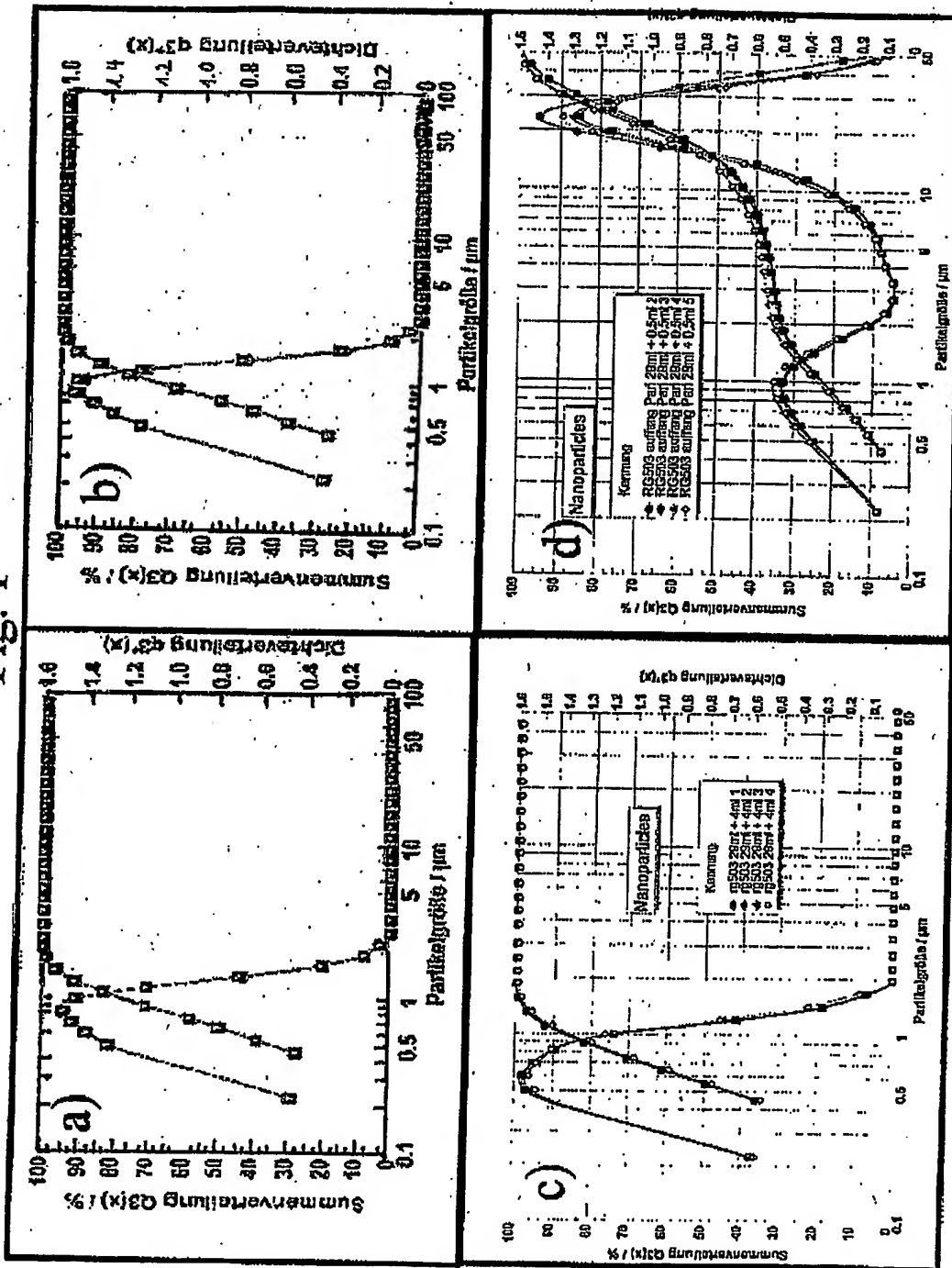
23. Verwendung von Kammpolymeren gemäß einem der Ansprüche 19 oder 20 zur Herstellung von bioabbaubaren kolloidalen Partikeln gemäß den Ansprüchen 1 bis 12.

Zusammenfassung:

5 **Bioabbaubare kolloidale Partikel, insbesondere für pulmonale Applikationen**

10 Die Erfindung betrifft eine Zusammensetzung aus einem biologisch abbaubaren wasserlöslichen Kammpolymer basierend auf einem Polyol-Rückgrat mit Aminogruppen tragenden Seitenketten und als Stabilisator mindestens einer negativ geladenen organischen Base, die eine Lewis- oder Brönsted-Base sein kann, oder deren korrespondierender Säure, die eine Lewis- oder Brönsted-Säure sein kann, wobei die sauren Gruppen der Stabilisatoren im Über- oder
15 Unterschuss gegenüber den primären, sekundären oder tertiären Aminogruppen der Kammpolymere vorliegen oder die basischen Gruppen im Unter- oder Überschuss gegenüber den quartären Aminogruppen der Kammpolymeren vorliegen, so dass die kolloidalen Partikel ein positives oder negatives Zeta-Potential aufweisen. Solche kolloidalen Partikel eignen sich insbesondere zur pulmonalen Applikation von sauren oder negativ geladenen
20 Arzneimittelwirkstoffen.

Fig. 1



**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☒ **BLACK BORDERS**
- ☐ **IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**
- ☒ **FADED TEXT OR DRAWING**
- ☒ **BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING**
- ☐ **SKEWED/SLANTED IMAGES**
- ☐ **COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS**
- ☐ **GRAY SCALE DOCUMENTS**
- ☐ **LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT**
- ☐ **REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY**
- ☐ **OTHER:** _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.